

تأثیر ضدعفونی بذر با سموم مختلف بر میکوفلور بذر و گیاهچه پنبه

مرتضی عرب سلمانی*

استادیار بخش تحقیقات پنبه و گیاهان لیفی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی
استان تهران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۵/۲۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۲۶

چکیده

پوسیدگی بذر، بیماری‌های گیاهچه و تریپس مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای پنبه می‌باشند. بذر پنبه رقم ورامین با قارچ‌کش‌های سولفور، کاربوکسین تیرام و گل‌گوگرد و حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید و تیودیکارپ به نسبت پنج در هزار بذر به صورت جدا و توأم پوشش داده شدند. بذرها درون ماسه ساحلی سترون کاشته و با آب سترون آبیاری شدند. گیاهچه‌های بیمار و بذرها پوسیده از گلدانک‌ها بیرون آورده و پس از شست‌شوی اولیه با آب و ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم نیم درصد، قطعات کوچکی از بافت آلوده انتخاب و به محیط کشت عصاره سبب‌زمینی آگار حاوی آنتی‌بیوتیک انتقال داده شدند. شناسایی جدایه‌های قارچی به دست آمده بر اساس ویژگی‌های شکل‌شناسی انجام شد. با توجه به نتایج، مناسب‌ترین تیمار برای ضدعفونی بذر پنبه به ترتیب گل‌گوگرد، گل‌گوگرد به همراه ایمیداکلوپراید، سولفور، سولفور به همراه تیودیکارپ، کاربوکسین تیرام به همراه تیودیکارپ، کاربوکسین تیرام به همراه ایمیداکلوپراید، گل‌گوگرد به همراه تیودیکارپ، سولفور به همراه ایمیداکلوپراید توصیه می‌شود، قارچ‌های *Basipetospora sp.*, *Aspergillus spp.*, *Alternaria sp.*, *Fusarium spp.*, *Cladosporium sp.*, *Cheatomium sp.*, *Cephalosporium sp.*, *Bipolaris sp.*, *Geotrichum sp.*, *Melanospora sp.*, *Monascus sp.*, *Myrothecium sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Sclerotium sp.*, *Ulocladium sp.* با فراوانی متفاوت از جنین، پوسته بذر، بذر، گیاهچه‌های بیمار و بذرها پوسیده جداسازی شدند.

واژه‌های کلیدی: پنبه، حشره‌کش، ضدعفونی، قارچ‌کش و گل‌گوگرد.

مقدمه

پنبه از مهم‌ترین محصولات زراعی و صنعتی جهان است و در صنایع مختلف نساجی، روغن‌کشی و دامی و... استفاده می‌شود. تکثیر و تولیدمثل پنبه از طریق جنسی انجام می‌گیرد، لذا بذر مهم‌ترین عامل انتقال عوامل بیماری‌زای پنبه بخصوص در مقیاس کشوری و قاره‌ای می‌باشد. بیماری‌های بذرزاد پنبه آن دسته از عوامل بیماری‌زا هستند که بذر عامل اصلی جابجایی اولیه بیماری می‌باشد. ضدعفونی یا به عبارت صحیح‌تر تیمار بذر عبارت است از آغشته کردن بذر به ماده یا مواد شیمیایی برای کاهش، کنترل یا دور کردن حشرات، عوامل بیماری‌زا و سایر موجوداتی که به بذر یا گیاهچه حمله می‌کنند. حفاظت بذرها موجب پریش شدن گیاهان در مزرعه، سلامت گیاهان، بهبود کمیت و کیفیت محصول و جلوگیری از پراکنده شدن و اشاعه آفات (به معنی اعم کلمه) می‌گردد. برآورد شده است که هیچ روشی با داشتن دیگری به اندازه تیمار بذر بازده اقتصادی ندارد. حشره‌کش‌های لاروین و گاچو جزء سموم توصیه شده برای ضدعفونی بذر پنبه علیه آفات اول فصل می‌باشند. پروانه بید آرد، مگس گیاهچه خوار، مگس لوبیا یا مگس هیلیمما، کرم مفتولی یاسیمی ریشه، کرم طوقه بر، تریپس پنبه یا تریپس پیاز، کک پنبه، مهم‌ترین آفاتی هستند که به بذر و گیاهچه پنبه در مزرعه صدمه می‌رسانند. تریپس زرد پنبه (*Trips tabaci*) به عنوان مهم‌ترین آفت اول فصل در اکثر مناطق پنبه‌کاری ایران می‌باشد. حشره‌کش لاروین به نسبت ۵ تا ۷ گرم برای هر کیلو بذر جهت کاهش خسارت این آفت به صورت ضدعفونی بذر توصیه شده است (عرب سلمانی و همکاران، ۲۰۰۴). این حشره‌کش با نام عمومی تیودیکارپ از گروه کاربامات‌ها و به صورت گرانول یا پود قابل انتشار در آب و به صورت تماسی و گوارشی اثر می‌کند. لاروین حشره‌کشی سیستمیک و به علت دوام طولانی مناسب ضدعفونی بذر می‌باشد. حشره‌کش گاچو متعلق به گروه نیتروگائونیدین و به صورت مایع قابل انتشار و پودر تر شونده برای ضدعفونی بذر به میزان ۵ تا ۷ گرم در هر کیلو بذر پنبه توصیه شده است (حمیدی و همکاران، ۲۰۱۲). بیماری‌های بذرزاد پنبه آن دسته از عوامل بیماری‌زا هستند که بذر عامل اصلی جابجایی اولیه بیماری می‌باشد. نقش بذر بیشتر در ایجاد کانون‌های اولیه بیماری است. موجودات زنده همراه بذر پنبه تنوع زیادی دارند که یا همراه با بذر هستند و توسط بذر فقط حمل شده و هیچ‌گونه ارتباط بیولوژی بین عامل بیماری‌زا و گیاه میزبان وجود ندارد و یا درون بذر قرار دارند که در این حالت ارتباط بیولوژی بین میزبان و عامل بیماری‌زا ایجاد شده و انتقال واقعی صورت می‌گیرد و ممکن است در یکی از مراحل رشد و تکامل بوته پنبه بیماری‌زا باشند (آگراوال و سینکлер، ۱۹۹۷؛ آهون منش، ۱۹۹۹؛ کریک پاتریک، ۲۰۰۱). عوامل بیماری‌زای بذرزاد پنبه، بعد از استقرار در مزرعه، باعث پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه، سوختگی، ایجاد لکه در برگ، پوسیدگی قوزه و پژمردگی گیاهچه و بوته پنبه می‌شوند (آگراوال و سینکлер، ۱۹۹۷؛ هیلوکس و والر، ۱۹۹۷). پنبه‌دانه‌ها ممکن

است در مزرعه، انبار و یا بعد از کاشته شدن مورد حمله عوامل پوساننده قرار گرفته و از بین بروند. خسارت ناشی از بیمارگرهای بذرزاد در پنبه، تا ۱۲ درصد گزارش گردیده است. میزان خسارت بیماری پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه، در مزارع دنیا بین ۳/۴۰-۴۸/۱ درصد برآورد شده است. در بعضی از مزارع، گاهی تا حدود ۸۰ درصد گیاهچه‌ها از بین می‌روند. خسارت شامل کاهش عمل‌کرد، هزینه‌های اجرایی برای زدودن آلودگی از بذرها، هزینه تهیه مواد شیمیایی، کاهش اندازه، وزن و تعداد بذرها، تولید بوته‌هایی با شاخه و ریشه‌های کمتر، کاهش قدرت‌رویشی بذرها، تولید ریشه و ساقه ضعیف، پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه و بیمارشدن گیاهچه‌ها، تغییر فرم و شکل بذرها، کاهش مقدار و نوع پروتئین‌های پنبه‌دانه، کاهش کیفیت روغن و افزایش اسیدهای چرب آزاد و تولید توکسین‌های قارچی در پنبه‌دانه و روغن خوراکی می‌باشد (آگراوال و سینکلر، ۱۹۹۷؛ سلیمانی و همکاران، ۱۹۹۵). بیش از ۴۰ گونه قارچ عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر پنبه گزارش شده‌اند. تعدادی از این قارچ‌ها دارای دامنه میزبانی وسیع و غیر اختصاصی بوده در حالی که تعدادی دارای میزبان کمتری هستند. از نظر تغذیه‌ای به صورت نکروتروف، ساپروفیت، انگل اجباری و انگل اختیاری فعالیت می‌کنند. تعدادی بیمارگر اولیه و تعداد دیگری بیمارگر ثانویه هستند. بعضی محدود به خاک و بعضی حمله‌کننده به خاک هستند (علوی و آهون منش، ۱۹۹۹). نتایج بدست آمده در آمریکا نشان داده است که گونه‌های Fusarium شایع‌ترین قارچ‌های آلوده‌کننده بذر پنبه هستند. از میزان آلودگی سطحی بذرها ۳۷/۵ درصد آن مربوط به فوزاریوم و ۲۰/۵ درصد از آلودگی جنینی بذرها نیز مربوط به این گونه‌ها بوده است (آگراوال و سینکلر، ۱۹۹۷؛ کریک پاتریک، ۲۰۰۱). خسارت ناشی از آلودگی بذر پنبه به قارچ‌های *Thielaviopsis basicola*، *Fusarium solani* و *Pythium ultimum* در لوئیزیانا آمریکا نزدیک به چهار تا پنج درصد کل پنبه این ایالت گزارش شده است (عرب سلمانی، ۲۰۱۵). حمل و انتقال بیماری‌های ناشی از عوامل بیماریزای *Alternaria spp.*، *Fusarium spp.*، *Ascochyta gossypii*، *Aspergillus flavus*، *Botryodiplodia theobromae*، *Gladosporium herbarum*، *Colletotrichum gossypii*، *Curvularia lunata*، *Lesiodiplodia theobromae*، *Nematospora coryli*، *Fusarium*، *Xanthomonas smithii* sub sp. *smithii* و *Verticillium dahliae*، *oxysporum* f.sp. *vasinfectum* توسط بذر پنبه گزارش گردیده است (آگراوال و سینکلر، ۱۹۹۷؛ کریک پاتریک، ۲۰۰۱). قارچ *V. dahliae* در ریشه کمتر از ساقه است و بیشترین جمعیت را در قسمت‌های مرکزی ساقه تشکیل می‌دهد. این قارچ به ندرت در روی پوشش‌بذر ظاهر می‌شود و در صورت آلودگی پوشش‌بذر جنین آلوده نمی‌شود. انتقال یا حمل عوامل پوسیدگی بذر ناشی از *Fusarium spp.*، *Alternaria spp.*، *Aspergillus spp.*، *Rhizopus spp.*، *Penicillium spp.*، *C. gossypii*، *Rhizoctonia solani* و *X. s. sub sp. smithii* توسط بذر گزارش شده است. انتقال عوامل بیماریزای پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه،

لکه برگ‌گی و سوختگی ناشی از *Alternaria spp*، لکه‌برگی و سوختگی گیاهچه ناشی از *A. gossypii*، سوختگی گیاهچه و پوسیدگی قوزه ناشی از *A. flavus*، پوسیدگی خشک ناشی از *B. theobromae*، پوسیدگی ناشی از *Gladosporium herbarum*، مرگ گیاهچه، آنتزاکنوز، پوسیدگی صورتی ناشی از *Clumerella gossypii*، سوختگی گیاهچه ناشی از *C. lunata*، *B. theobromae*، پوسیدگی ریشه و سوختگی ساقه ناشی از *Macrophomina phaseolina*، کاهش رشد، پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه و پوسیدگی قوزه ناشی از گونه‌های فوزاریوم، پوسیدگی داخلی قوزه پنبه ناشی از *Nematospora corylii*، پژمردگی بوته ناشی از *F.o. f.sp. vasinfectum*، پژمردگی ناشی از *V. dahliae* و سوختگی ناشی از باکتری *X. s. sub sp. smithii* توسط بذرنپه گزارش شده است (آگراوال و سینکلر، ۱۹۹۷؛ هیلوکس و والر، ۱۹۹۷). در ایران قارچ‌های *Alternaria alternata*، *A. niger*، *Fusarium acuminatum*، *R. solani*، *R. arrhizus*، *Pythium ultimum*، *Sclerotium rolfsii* و *R. solani* به‌عنوان عوامل پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه پنبه معرفی شده‌اند. از عوامل ذکر شده قارچ‌های (3%) *A. alternata* (6%) *A. niger*، (12%) *F. acuminatum*، (1%) *R. arrhizus*، (11%) *R. solani* به‌عنوان عوامل پوساننده بذر و مرگ گیاهچه قبل از رویش و قارچ‌های (31%) *R. solani*، (11%) *S. rolfsii*، (46%) *R. solani* و (12%) *P. ultimum* از گیاهچه‌های بیمار بعد از رویش جداسازی، شناسایی و به‌عنوان عوامل پوسیدگی گیاهچه بعد از رویش معرفی شده‌اند (منصوری و حمداله زاده، ۱۹۹۶؛ حمداله‌زاده، ۱۹۸۹). گونه‌های متعلق به *Aspergillus*، *Penicillium*، *Rhizopus* و *Thrichoderma* که بصورت ساپروفیت یا گندروی در خاک هوا و سطح اجسام غیرزنده، بذر والیاف زندگی می‌کنند به‌عنوان عامل اصلی بیماری مرگ گیاهچه و بذر اهمیت ندارند مگر اینکه گیاهچه ضعیف شود یا شرایط برای رشد گیاهچه مناسب نباشد (مود، ۱۹۹۸). در چنین حالتی بسیاری از بذرها می‌پوسند و مرگ گیاهچه قبل از رویش افزایش می‌یابد (واتکینسون، ۱۹۸۱). در حال حاضر در ایران برخی سموم قارچ‌کش به ویژه سم ترکیبی کاربوکسین تیرام برای ضدعفونی بذرها پنبه توصیه می‌شوند (خباز جلفایی و همکاران، ۲۰۱۱) هر چند به‌طور دقیق مشخص نیست که بر روی کدام قارچ‌های بیماری‌زای بذرزاد پنبه اثر موفق دارند. این سموم در بسیاری از موارد به صورت مخلوط با سموم حشره‌کش برای ضدعفونی بذر به کار می‌روند. مشخص نیست چرا استفاده از برخی سموم گوگردی مانند گل‌گوگرد به‌عنوان یک سم نسبتاً ارزان، بدون گیاه‌سوزی، غیروارداتی، با اثرات توأم قارچ‌کشی، حشره‌کشی و کنه‌کشی، با کمک به تغذیه بهتر گیاه و اثر نامطلوب زیست محیطی کمتر، برای تیمار بذرها پنبه رایج نشده است. در صورتیکه یکی از اجزای مهم مدیریت تلفیقی استفاده از سموم کم‌خطر و کاهش مقدار مصرف سم می‌باشد (هیلوکس، ۱۹۹۲). گوگرد به تنهایی و در ترکیب با محلول کالیفرنی یکی از مهم‌ترین قارچ‌کش‌ها می‌باشد. در سال ۱۸۰۰ و در ابتدای سال ۱۹۰۰، گرد گوگرد بر علیه بیماری سفیدک

پودری روی درختان میوه استفاده می‌شد. در سال ۱۹۵۸ گوگرد بیشتر از قارچ‌کش‌های دیگر بر علیه قارچ‌ها استفاده می‌شد. اگرچه، امروزه با گسترش قارچ‌کش‌های آلی استفاده گوگرد با دیگر ترکیبات غیرآلی کاهش یافته است. محلول کالیفرنی یا لایم سولفور، مخلوط کلسیم پلی سولفید و کلسیم تیوسولفات است. این محلول توسط ترکیب آهک با گوگرد تولید می‌شود. امروزه برای کنترل انواعی از بیماری‌ها مانند لکه‌سیاه رزو بیماری‌های تمشک استفاده می‌شود. لایم‌سولفور بیشتر از ۵۰ سال است که به طور گسترده کاربرد دارد (لایر و همکاران، ۱۹۹۶). گوگرد از هزاران سال قبل از میلاد مسیح برای ضدعفونی منازل و انبارها استفاده می‌شده است. در بین ترکیبات قارچ‌کش معدنی، گوگرد اولین قارچ‌کش بسیار مؤثر در کنترل بیماری‌های گیاهی است. خواص قارچ‌کشی گوگرد خالص حداقل ۱۹۰ سال پیش شناخته شده است. تعدادی از ترکیبات معدنی گوگرد خالص دارای خاصیت قارچ‌کشی، کنه‌کشی و حتی حشره‌کشی هستند. امکان اختلاط گوگرد قابل تعلیق در آب با اکثر ترکیبات آفت‌کش به استثنای روغن‌ها وجود دارد (بانچناتور، ۱۹۹۵). تاکنون تحقیقی در مورد استفاده از گوگرد در ضدعفونی بذر و به خصوص بذر پنبه در ایران انجام نشده و یا انتشار نیافته است. این تحقیق به منظور بررسی کارایی سموم گوگردی برای ضدعفونی بذر پنبه، تأثیر تیمار با سموم بر جمعیت قارچی موجود در گیاهچه پنبه و تعداد گیاهچه سالم و توصیه مناسب‌ترین تیمار بذر وامکان جایگزینی آن‌ها با سموم وارداتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر: در اواخر شهریور ماه و ش‌های پنبه از مزارع پنبه سوپرالیتم رقم ورامین به دلیل خلوص بیشتر و کیفیت عالی بذر آن و به منظور حذف اثرات احتمالی ضدعفونی با سموم در ایجاد ریشه‌های غیر طبیعی و افزایش بیمارگرهای ثانوی در ایستگاه تحقیقات مرکزی ورامین جمع‌آوری گردیدند. و ش‌ها به بخش تحقیقات پنبه و گیاهان لیفی واقع در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران انتقال و با جین هشت اره‌ای جین زده و الیاف از پنبه دانه‌ها جدا شدند. ۵۰۰ عدد بذر کرک‌دار به منظور شاهد کرک‌دار جدا و بقیه بذرها با اسید سولفوریک ۹۸ درصد کرک‌گیری و با آب شست‌شو و خشک گردیدند. بذرها درون پاکت‌های کاغذی مناسب بسته‌بندی و تا زمان بررسی در دمای اتاق خشک و خنک نگهداری شدند.

ضدعفونی بذرها: بذرهای پنبه پس از دلینته شدن با گل‌گوگرد، گل‌گوگرد به همراه ایمیداکلوپراید، سولفور، سولفور به همراه تیودیکارپ، کاربوکسین تیرام به همراه تیودیکارپ، کاربوکسین تیرام به همراه ایمیداکلوپراید، گل‌گوگرد به همراه تیودیکارپ، سولفور به همراه ایمیداکلوپراید ضدعفونی شدند (عرب سلمانی و همکاران، ۲۰۰۴؛ آرندت، ۲۰۱۱). فرمولاسیون همه سموم از نوع پودر با قابلیت ترشوندگی

انتخاب گردید. از هر سم پنج گرم برای هر کیلو بذر استفاده شد. در شکل یک بذره‌های ضد عفونی شده و در جدول یک تیمارهای همراه با مقدار مصرف سموم مشخص شده‌اند. هر کیلو بذر ابتدا با ۲۰ میلی‌لیتر آب مرطوب و سپس سم وزن شده با بذرها کاملاً مخلوط و خشک گردیدند.



شکل ۱: بذر های ضد عفونی شده با ترکیبات مختلف

تهیه محیط کشت: برای جداسازی و کشت قارچ‌های احتمالی آلوده‌کننده گیاهچه از محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز آگار استفاده گردید. پس از اتوکلاو کردن محیط کشت ذکر شده و به محض رسیدن به دمای مناسب (حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد)، به ازای هر لیتر، ۲۵۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین اضافه و درون تشتک‌های پتری با قطر شش سانتی‌متری ریخته شد.

کاشت بذرها در خاک: برای تهیه بستر، ابتدا ۱۰ تا ۱۲ کیلوگرم ماسه‌بادی جمع‌آوری شده از ساحل دریای خزر (در شمال ایران) به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و سترون شدند. بعد از تهیه زه‌کش مناسب برای چاهک‌ها، مقداری ماسه در شانه‌های کاشت پلاستیکی ریخته شد. به ازای هر چاهک، یک بذر انداخته شد و بدین ترتیب ۱۰۰ عدد بذر کامل برای هر یک از تیمارها کاشته شدند (شکل ۲). برای هر تیمار چهارصد عدد بذر در چهار شانه پلاستیکی (چهار تکرار) در نظر گرفته شد.

جدول یک: تیمارهای بذر استفاده شده.

ردیف	تیمارها (نام عمومی سم)	نام تجاری سم	مقدار استفاده سم
۱	بذر کرکدار	-	-
۲	بذر دلینته	-	-
۳	پودر سولفور	Micronized Sulfur	پنج گرم برای هر کیلو بذر
۴	پودر سولفور	Kumulus	پنج گرم برای هر کیلو بذر
۵	پودر سولفور و کاربوکسین-تیرام	Kumulus and Vitavax-Tiram	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۶	پودر ایمیداکلوپرید و کاربوکسین-تیرام	Gaucho and Vitavax-Tiram	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۷	پودر گل گوگرد و کاربوکسین-تیرام	Micronized Sulfur and Vitavax-Tiram	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۸	پودر گل گوگرد و تیودیکارب	Micronized Sulfur and Larvin	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۹	پودر گل گوگرد و ایمیداکلوپرید	Micronized Sulfur and Gaucho	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۱۰	پودر سولفور و تیودیکارب	Kumulus and Larvin	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۱۱	پودر سولفور و ایمیداکلوپرید	Kumulus and Gaucho	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر
۱۲	کاربوکسین-تیرام و تیودیکارب	Vitavax-Tiram and Larvin	پنج و پنج گرم برای هر کیلو بذر



شکل ۲: کاشت بذر در گلدانکها.

جداسازی عوامل بیماری‌زای بذر و گیاهچه: پس از گذشت دو هفته و رویش گیاهچه‌ها، تعداد گیاهچه‌های فاقد علائم بیماری شمارش و آن دسته از گیاهانی که علائم بیماری داشتند (شکل ۳ و ۴)، از گلدانک‌ها خارج شدند و پس از شست‌شوی اولیه با آب و ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه، قطعات کوچک از مرز بافت‌های سالم و آلوده، انتخاب و در محیط PDA حاوی آنتی‌بیوتیک قرار داده شدند. برخی از بذرهای نیز اصلاً رشد نکردند و گیاهچه‌ای

از آن‌ها حاصل نشد. در این حالت کل‌بذر، پس از طی مراحل ضدعفونی سطحی، به سطح محیط کشت انتقال داده شد.



شکل ۳: بذرهای پوسیده، گیاهچه‌های بیمار و سالم حاصل از بذر کرک‌دار (راست) و دلینته (چپ)

شناسایی جدایه‌های قارچی: یک تا دو هفته پس از کاشت بافت‌های بیمار و بذرهای پوسیده، قارچ‌های رشد کرده جدا و بسته به نوع قارچ روش نوک ریشه یا تک اسپور و با تهیه محیط کشت آب-آگار ۲ درصد، خالص‌سازی شدند. برای تشخیص از کلیدهای معتبر استفاده شد (بارنت و هانتز، ۱۹۹۳؛ هانلین، ۱۹۹۰). در مرحله اول، از هر کشت، یک بلوک به اندازه دو در پنج میلی‌متر برداشته و روی لام گذاشته و زیر میکروسکوپ بررسی گردید. در مرحله بعد با توجه به نیاز، با سافرانین یا اسید فوشین رنگ‌آمیزی انجام گردید. در مرحله آخر عکس‌برداری از نمونه میکروسکوپی به وسیله لنز دینولایت، انجام شد.



شکل ۴: بذرها و گیاهچه‌های آلوده و پوسیده

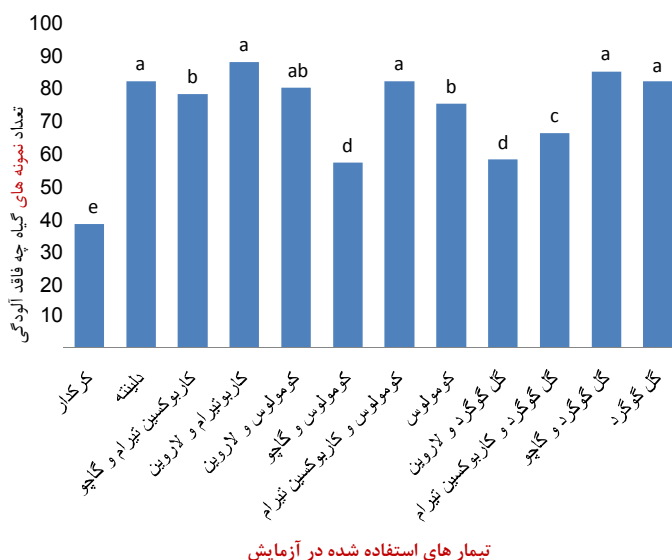
تجزیه و تحلیل آماری

میانگین تعداد گیاهچه فاقد آلودگی قارچی در قالب طرح کاملاً تصادفی با دوازده تیماردر چهار تکرار تجزیه واریانس و مقایسه میانگینها به روش دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS ver:19 انجام شد.

نتایج و بحث

پس از مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در کاهش جمعیت قارچهای آلوده کننده گیاهچه، مشخص شد که کلیه تیمارهای مورد استفاده، منجر به کاهش تعداد قارچهای آلوده کننده بذر و گیاهچه و افزایش گیاهچههای فاقد آلودگی نسبت به بذر کرکدار شده اند. دلنیته کردن بذر ضد عفونی توام با قارچ کش کاربوکسین تیرام و حشره کش لاروین، ضد عفونی توام با کاربوکسین تیرام و کومولوس، گل گوگرد و حتی دلنیته کردن بذر ها به تنهایی، باعث افزایش سلامت گیاهچه شدند (شکل ۵). از بذرهای پوسیده و گیاهچههای آلوده پنبه قارچهای *Alternaria sp.*, *Chetomium sp.*, *Cephalosporium sp.*, *Bipolaris sp.*, *Basipetospora sp.*, *Aspergillus spp.*, *Mucor*, *Monascus sp.*, *Melanospora sp.*, *Geotrichum sp.*, *Fusarium spp.*, *Cladosporium sp.* و *Ulocladium sp.*, *Sclerotium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Penicillium spp.*, *Myrothecium sp.* و *Rhizoctonia solani* جداسازی و شناسایی شدند. براساس مقایسه آماری تیمارها از نظر تأثیر ضد عفونی بذر با سموم مختلف بر حضور گیاهچه سالم و بدون آلودگی قارچی، ضد عفونی بذر پنبه با گل گوگرد، گل گوگرد به همراه گاچو، کومولوس به همراه کاربوکسین تیرام، کاربوکسین تیرام به همراه لاروین و بذر دلنیته در یک سطح آماری (a)، کومولوس به همراه لاروین در یک سطح آماری (ab)، کاربوکسین تیرام به همراه گاچو و ضد عفونی با کومولوس در یک سطح آماری (b)، گل گوگرد به همراه کاربوکسین تیرام در یک سطح آماری (c)، کومولوس به همراه گاچو و گل گوگرد به همراه لاروین در یک سطح آماری و (d) بذر کرکدار در یک سطح آماری (e) قرار گرفتند (شکل ۵).

رس بودن عامل ضد عفونی کننده بهترین تیمارها به ترتیب اولویت شامل ضد عفونی بذر با گل گوگرد، گل گوگرد به همراه گاچو، کومولوس، کومولوس به همراه لاروین، کاربوکسین تیرام به همراه لاروین، کاربوکسین تیرام به همراه گاچو، گل گوگرد به همراه لاروین، کومولوس به همراه گاچو و در صورت نداشتن عامل ضد عفونی کننده، دلنیته کردن بذر توصیه می شود. عوامل پوساننده بذر و مرگ گیاه چه ممکن است خاک زاد، بذر زاد و یا هوازاد باشند (مینوتون و گارلر، ۱۹۸۳) بر این اساس دلنیته نمودن بذر گرچه باعث افزایش شمار گیاهچههای سالم می شود ولی اگر ماهیت عامل بیماری خاک زاد و هوازاد باشد، در مزرعه و انبار امکان از بین رفتن گیاهچه و آلودگی مجدد بذر وجود دارد. بنابراین دلنیته نمودن بذر به تنهایی کفایت نمی کند.



شکل ۵: تأثیر تیمارهای شیمیایی و دلینته کردن بذربر تولید گیاهچه‌های سالم پنبه، حروف مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن در سطح احتمال پنج درصد می باشد (اعداد میانگین چهار تکرار است).

با توجه به تعداد گیاهچه‌های فاقد آلودگی قارچی و جلوگیری از حمله تریپس، ارزان بودن و در دست در این تحقیق قارچ‌کش حفاظتی مانند گل‌گوگرد، به تنهایی تأثیر مشابهی در مهار بیماری‌های قارچی در گیاهچه داشته و حتی در حالت کاربرد مخلوط با حشره‌کش گاجو نیز قابلیت بالا و قابل قبولی از خود نشان داد. تحقیقات انجام شده در مورد امکان ضدعفونی توام قارچ‌کش‌های کاربوکسین تیرام، بنومیل و کاربندازیم با حشره‌کش‌های گاجو و لاروین و نیز اثرات جانبی آنها مشخص کرده که ضدعفونی توام کاربوکسین تیرام و گاجو برای حفاظت بذر و گیاهچه پنبه موثر و توصیه شده و با قسمتی از نتایج این تحقیق مطابقت دارد (عرب سلمانی و همکاران، ۲۰۰۴). با توجه به اهمیت سموم گوگردی و وجود مقدار زیاد آن در کشور، خصوصیات گوگرد و اهمیت آن در ادامه بیان می‌گردد. گوگرد خالص دارای خاصیت قارچ‌کشی، کنه‌کشی و حشره‌کشی و باکتری‌کشی است. گوگرد قارچ‌کشی غیر سیستمیک با خواص حفاظتی-التیامی است و در کاهش نرخ آلودگی و شدت آلودگی بیماری‌های قارچی در محصولات مختلف موثر بوده است (بامدادیان، ۱۹۹۹). کاربرد گوگرد موجب مقاومت‌القای در گیاه شده و در زراعت ارگانیک و القای مقاومت موثر است (رخشانی و طاهری، ۲۰۱۷). گوگرد عنصری است که در طبیعت به‌طور گسترده و به حالت آزاد و یا در ترکیب با سایر مواد موجود می‌باشد.

در پالایشگاه‌های ایران به‌عنوان یک محصول جانبی و ارزان به وفور تولید و تهیه و توزیع آن آسان است. نگهداری و فرموله کردن آن دارای خطرات جانبی کمتری نسبت به سایر قارچ‌کش‌ها است. امکان کنترل چندین بیماری و آفت به طور همزمان وجود دارد. سمیت پایینی برای انسان و دام دارد. با سایر مواد شیمیایی سازگاری دارد. دارای خاصیت کنه‌کشی و حشره‌کشی است (خانجانی و پورمیرزا، ۲۰۰۵). در اصلاح خاک و تغذیه گیاه کاربرد دارد و مصرف کردن آن موجب تثبیت و استفاده از فسفر توسط گیاه می‌شود. مقاومت به آن توسط قارچ‌ها تا کنون گزارش نشده است. اهمیت ضدعفونی گل‌گوگرد و ترکیبات گوگردی تولید داخل زمانی مشخص می‌شود که جنبه اقتصادی و سیاسی به مدیریت بیماری‌ها و آفات نیز در نظر گرفته‌شود، چرا که گل‌گوگرد به فراوانی و با بهایی نسبتاً ارزان در داخل کشور تولید شده و به خارج از کشور صادر می‌شود. در هندوستان گوگرد را به مقدار زیادی هر ساله برای تولید کردن محصولات قارچ‌کش وارد می‌کنند. از سویی دیگر، این ترکیب خاصیت حشره‌کشی (کنترل تریپس) و کنه‌کشی نیز داشته (طالبی جهرمی، ۲۰۱۱) و ممکن است بتوان آن را جایگزین بعضی سموم آفت‌کش مصرفی در پنبه نمود. با تیمار بذرهای پنبه با گل‌گوگرد علاوه بر کنترل قابل قبول آفات و بیمارگرهای بذر و گیاهچه در طی انبارداری و مزرعه، با در نظر گرفتن این نکته که گوگرد خود نوعی ماده‌غذایی معدنی مورد نیاز گیاه است، لذا استفاده از این ترکیب می‌تواند نیاز به کاربرد کودهای سولفور در مراحل آغازین رشد گیاهچه را نیز برطرف سازد. گل‌گوگرد سمیت بسیار پایینی برای انسان و سایر پستانداران دارد و در صورتی که بخشی از بذور تیمار شده، پس از نگهداری در انبار، برای کاشت استفاده نشود؛ شست‌شوی بذر با آب، باقی مانده گل‌گوگرد را حذف و آن را جهت تغذیه دام قابل استفاده می‌سازد. آنچه در بالا اشاره شد حاکی از آن است که استفاده از گوگرد در مقایسه با سایر قارچ‌کش‌ها دارای مزایای خاصی است که تاکنون در هیچ یک از ترکیبات شیمیایی جدید به تنهایی یافت نشده است. نام‌های تجاری برای محصولات گوگردی شامل: Clifton sulfur, Lacco sulfur, Brimstone Sul-Cide, Cosan, Kumulus S, Sofrill, Sulfex, Thiolux, Thiovit, Magnetic 6Liguide Sulfur, Thion, Zolvis, Golden Dew می‌باشند. گوگرد قابل حل در آب بیماری‌های قارچی، کرم‌ها و کنه‌های روی گیاهان را کنترل می‌کند. از گوگرد در کاهش pH و اسیدی کردن خاک استفاده می‌شود. گوگرد قابل حل در آب بوسلیه افزودن ترکیبات خیس‌کننده و پخش‌کننده به ذرات ریز گوگرد تهیه می‌شود. گل‌گوگرد در آب محلول یک‌نواخت تولید نمی‌کند ولی در مخزن سم‌پاشی با آب مخلوط شده و یک محلول یک‌نواخت ایجاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد عدم توجه به مواد اولیه سموم در داخل کشور و تمرکز به واردات سموم باعث کاهش استفاده از ترکیبات گوگردی در زراعت پنبه شده است. با توجه به ماهیت عوامل پوساننده بذر و مرگ گیاهچه، امکان نگهداری بذر در انبار، مصرف در دامپروری بذور اضافه و سنواتی، خاصیت حشره و کنه‌کشی گل‌گوگرد و جلوگیری از حمله تریپس و دورکنندگی آن (طالبی جهرمی، ۲۰۱۱) در اول فصل، ارزان بودن و در دسترس بودن نیاز تغذیه‌ای پنبه به گوگرد، گل‌گوگرد یکی از مناسب‌ترین مواد شیمیایی برای ضدعفونی کردن بذر پنبه می‌باشند. در صورت ضدعفونی بذر با گل‌گوگرد و انبارداری آن به دلیل خاصیت دورکنندگی و حشره‌کشی بذرها از حمله آفات انباری و موش محافظت می‌شوند.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی تهران به دلیل کمک به اجرای این تحقیق و موسسه تحقیقات پنبه کشور به دلیل کمک به تصویب طرح و کمک به اجرای آن سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Agrawal, J. and Sinclair, J. B. 1997. Principles of Seed Pathology. CRC Press. 539pp.
2. Ahoonmanesh, A. 1999. Principles of Plant Disease Control. Isfahan University of Technology, 324pp. (In Persian).
3. Alavi, A. and Ahoonmanesh, A. 1999. Seed borne Diseases, Their Control Principles and Practices. Isfahan University of Technology, 478pp. Agriculture Research, Education & Extension Organization, Ministry of Agriculture, 478 p. (In Persian).
4. Arabsalmani, M. 2015. Cotton seed borne disease in Golestan Province in Northern Iran. Science Journal 36: 2065 – 2070.
5. Arabsalmani, M., Bniani, E., Azaddisfani, F. and Nemati, N. 2004. Effect of both application fungicides Carboxin- Thiram and Carbendazim with insecticide Larvin and Gaucho on germination and stand establishment. 3rd National Conference on the Development in the Application of Biological Product & Optimum Utilization of Chemical Fertilizers & Pesticides in Agriculture, 21 – 23 Feb. Tehran, Iran. 521p. (In Persian with English Abstract).
6. Arndt, A. 2011. Cotton Adjustment Standards Hand books. United States Department of Agriculture. FCIC-25910. 48pp.
7. Bamdadian, A. 1999. Fungicides and Its Uses in Agriculture. Brahmamand press. 235p. (In Persian).

8. Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1993. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Saint. Paul, Minn. American Phytopathological Society Press 218 pp.
9. Buchenauer, H. 1995. DMI- fungicides side effects on the plant and problems of resistance. In: Modern Selective Fungicides. H.Lyr (Ed.) .Pp.259-279.
10. Hanlin, R.T. 1990. Illustrated Genera of Ascomycetes, Vol. 1. Saint. Paul, Minn. American Phytopathological Society Press. 263 pp.
11. Hamdollahzadeh, A. 1989. Survey of cotton diseases in Gorgan, Final report designe, Agricultural research center of Golestan province. 42Pp. (In Persian with English Abstract).
12. Hamidi, A., Naderi-Arefi, A., Forghani, H., Vafayi-Tabar, Arabsalmani, M. and Hakimi, M. 2012. Cotton Seed Production and Technology. Meher Matin Press. 648pp. (In Persian).
13. Hillocks, R. and Waller J.M. 1997. Soil Borne Diseases of Tropical Crops. CAB. International, Wallingford, UK. 455 pp.
14. Hillocks, R.J. 1992. Cotton Diseases. CAB. International, Wallingford, UK. 415 pp.
15. Khanjani, M. and Pourmirza, A.A. 2005. Toxicology. Bu-Ali Sina University, 440pp. (In Persian).
16. Khabbaz-Jolfaee, H. and Azimi, S. 2011. A Guidebook for Optimum Application of Licenced Pathogenicides on Plant Diseases in Iran (Scientific and Practical). Iranian Research Institute of Plant Protection Publications, Iran. 312pp. (In Persian).
17. Kirkpatrick, T.L. and Rothrock, C.S. 2001. Compendium of Cotton Diseases. Saint Paul Minn. American Phytopathological Society Press. 77 pp.
18. Lyr, H., Fussel, P.E. and Sisler, H.D. 1996. Modern Fungicides and Antifungal Compounds. Athenaeum press. 575pp.
19. Maude, R.B. 1998. Seeborne Diseases and Their Control. CAB Press 478pp.
20. Minton, E.B. and Garber. R.H. 1983. Controlling the seedling disease complex of cotton. Plant Dis. 67: 115-118.
21. Mansoori, B. and Hamdollahzadeh, A. 1996. Seed rot and seedling diseases of cotton in Gorgan and Gonbad area. I.J.P.P. 62:80- 83. (In Persian with English Abstract).
22. Rakhshani, E. and Taheri, A. 2017. Principles of Agricultural Toxicology. Farhange Jame press. 446pp. (In Persian).
23. Solymani, M., Hedjaroud, Gh. and Zad, J. 1995. Survey on mycoflora of cotton seed in I.J.P.P. 29:132- 139. (In Persian with English Abstract).
24. Talebi Jahromi, Kh. 2011. Pesticides Toxicology. Tehran University, 506pp. (In Persian).
25. Watkinson, G.M. 1981. Compendium of Cotton Disease. APS Press, St. Paul, MN, USA. 87 pp.

